内径 0.32 mm のキャピラリカラムを用いた受託ラボプログラム (CLP) 農薬分析

アプリケーションノート

環境

執筆者

Doris Smith and Ken Lynam
Agilent Technologies, Inc.
2850 Centerville Road
Wilmington, DE 19809-1610
USA

概要

微量有機塩素系農薬検査は、競争の激しい受託ラボ市場において大きな需要のある重要な分析です。本アプリケーションノートでは、CLP 微量農薬分析向けの堅牢なガスクロマトグラフメソッドについて解説します。このメソッドでは、内径 0.32 mm の Agilent J&W DB-17ms および DB-XLB GC カラムと、水素キャリアガス、2 台の ECD (電子捕獲型検出器) を使用します。本アプリケーションノートは、0.18 mm 内径ではなく 0.32 mm 内径のカラムを使用してサンプル容量を増やしたいというラボにとって有用です。2 本のカラムへサンプルを誘導するために、アジレントのキャピラリ・フロー・テクノロジー (CFT) デバイスである 2 ウェイスプリッタ (メークアップなし) を使用します。この再利用可能な CFT デバイスは、分析カラムと注入口を切り離すことによってメンテナンスを簡単にし、機器のダウンタイムを減らします。

Agilent Technologies

はじめに

本アプリケーションノートの内容は、メガボアのキャピラリカラムではなく、30 m x 0.32 mm (内径) のミディアムボアのキャピラリカラムを使用して農薬の定量を行い、サンプル容量を維持しながら分析スピードを上げたいというラボのニーズに応えるものです。受託ラボでは、分析時間と機器メンテナンスがサンプル処理能力の制限要因になることがあります。受託ラボが市場競争力を高めるためには、分析結果の質を維持しつつ、大量のサンプルを迅速かつ効率的に分析する能力が不可欠です。再利用可能な 2 ウェイスプリッタを使用すれば、メンテナンスとトラブルシューティングが簡単になり、機器の稼働率が高まります。

一般的にこの分析は、本分析と確認分析を同時に実行するためにデュアルカラムモードで行われ、各カラムはリテンションギャップと石英製 Y 字型スプリッタに接続されてきました。本アプリケーションノートでは、アジレントのキャピラリ・フロー・テクノロジー (CFT) デバイスである 2 ウェイスプリッタ (メークアップガスなし) [1] (部品番号 G3181B) を採用しました。スプリッタとカラムの接続図を図 1 に示します。リテンションギャップおよびカラムは、一般的なカラムの取り付けと同様、フェラルと内部ナットを使用して CFT スプリッタモジュールに取り付けました。Agilent CFT スプリッタは、SilTite メタルフェラルを採用することにより、350 °C の高温に達するような熱サイクルの中でも漏れや脱落の可能性を最小限に抑えています。

従来の石英製 Y 字型スプリッタでは、リテンションギャップや分析用カラムの交換には、Y 字型スプリッタを交換して全カラムを接続し直すという作業が伴います。この再利用可能な CFT スプリッタでは、スプリッタへの接続をカラムごとに個別に行うという方式が採用されています。この機能により、注入口とカラムのメンテナンスが、もう一方の分析用カラムの接続とは関係なく行えるようになっています。この結果、デュアルカラム分析システムのメンテナンスは簡略化され、機器のダウンタイムが大幅に短縮されます。

実験

一連の実験には、μECD を 2 台装備した Agilent 7890A GC システムと 7683B オートサンプラを使用しました。表 1 は、各分析の条件をまとめたものです。表2 は、各実験で使用した流路の消耗品をまとめたものです。

表 1.　CLP 農薬較正用標準溶液の分析条件

GC:	Agilent 7890A システムと 2 台の μECDs
サンプラ:	Agilent 7683B、5.0 μL シリンジ (部品番号 5181-1273)、0.5 μL スプリットレス注入
キャリア:	水素 79.7 cm/s、流量プログラム：3.76 mL/min、5.3 分間保持; 3.76 mL/min ～ 5.77 mL/min まで100 mL/min2 の速度で増加; 4 分間保持
注入口:	パルスドスプリットレス; 250 °C、パルス圧力 40 psi (0.2 分まで) パージ流量 15 mL/min (1 分)
注入口ライナ:	ダブルテーパダイレクト接続ライナ、不活性処理済 (部品番号 G1544-80700)
リテンション ギャップ:	1 m x 0.32 mm (内径) 不活性フューズドシリカ耐熱 チューブ (部品番号 160-2855-5)
カラム 1:	Agilent J&W DB-17ms 30 m × 0.32 mm × 0.25 μm (部品番号 123-4732)
カラム 2:	Agilent J&W DB-XLB 30 m × 0.32 mm × 0.5 μm (部品番号 123-1236)
オーブン:	180 °C (0.5 分) ～ 240 °C まで 20 °C/min で昇温し、1.3 分間保持; 20 °C/min で 265 °C まで昇温; 120 °C/min で 320 °C まで昇温; 3 分間保持
検出器:	μECD 325 °C、N2 メークアップ; コンスタントカラム + メークアップ = 62.01 mL/min

表 2.　流路の消耗品

CFT デバイス:	2 ウェイスプリッタアクセサリ、メークアップガスなし (部品番号 G3181B)
代替品:	不活性石英製 Y 字型スプリッタ (部品番号 5181-3398)
CFT フィッティング :	内部ナット (部品番号 G2855-20530) スウェージナット (部品番号 G2855-20555)
CFT フェラル:	SilTite フェラル、内径 0.32 mm (部品番号 5188-5362) SilTite フェラル、内径 0.25 mm (部品番号 5188-5361)
バイアル:	アンバーガラスクリンプキャップバイアル (部品番号 5183-4496)
バイアルキャップ:	クリンプキャップ (部品番号 5282-1210)
バイアル インサート:	100 mL ガラスインサート / 樹脂足付 (部品番号 5181-8872)
シリンジ:	5 μL (部品番号 5181-1273)
セプタム:	アドバンスドグリーン (部品番号 5183-4759)
注入口シール:	金メッキ注入口シール (部品番号 5188-5376)
注入口ライナ:	ダブルテーパダイレクト接続ライナ、不活性処理済 (部品番号 G1544-80700)
フェラル:	0.5 mm (内径) ショート; ベスペル/グラファイト 85/15 (部品番号 5062-3514)
20 倍ルーペ:	20 倍ルーペ (部品番号 430-1020)

サンプル調製

2つの CLP 農薬標準混合液を Accustandard 社 (コネティカット州ニューヘブン) から購入しました。CLP-023R-160X および CLP-024R-160X 濃縮液を 2,2,4-トリメチルペンタンで希釈した標準原液を用意しておき、逐次希釈して使用しました。

較正用標準溶液は、分析対象の微量化合物の濃度がそれぞれ 80、40、32、16、6.4、3.2 ng/mL になるように調製しました。どの溶液も、A 級メスピペットとメスフラスコを使用して 2,2,4-トリメチルペンタンで希釈して調製しました。JT Baker 社製 Ultra Resi. グレードの 2,2,4-トリメチルペンタンは、VWR International 社 (19380 米国ペンシルベニア州ウエストチェスター) から購入したものです。2,2,4-トリメチルペンタンは、試薬ブランクやシリンジ洗浄用溶媒として使用しました。

結果と考察

μECD を 2 台装備した GC システムを使用して、一回のサンプル注入から本分析と確認分析を同時に実行しました。従来型の石英製 Y 字型スプリッタの代わりに、アジレントのキャピラリ・フロー・テクノロジー (CFT) デバイスである 2 ウェイスプリッタ (メークアップなし) を使用して、2 本のカラムをリテンションギャップに接続しました。図 1 は機器の接続図です。フィッティングのシール点は、カラム接続部のデッドボリュームを抑え、最適な性能を引き出せるように設計されています。CFT スプリッタのサンプル流路は不活性処理が施されているため、活性点に起因するシグナル喪失を最小限に抑えます。

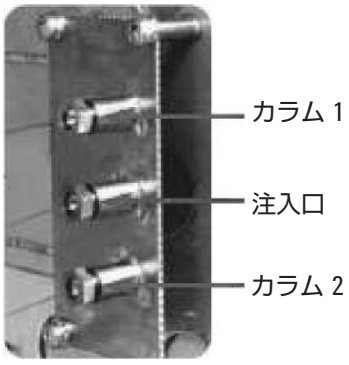
この分析では、分離能の低下を抑制または防止しつつリテンションタイムを短縮化するために、キャリアガスとして水素を使用しました。アジレントの GC メソッドトランスレーションソフトウェア [2] を使用すれば、ヘリウムキャリアガスのクロマトグラフ条件を水素キャリアガスのクロマトグラフ条件に簡単に変換できます。このソフトウェアは、インターネットより無料でダウンロードできます。さらに保持力の高いピークを高速化する流量プログラミングによって分析性能の強化を図りました。流量プログラミングは、圧力の再現性に関する問題を解消するために電子式圧力/流量制御 (EPC) 機器によって制御されます。

本アプリケーションノートでは、本分析には Agilent J&W DB-17ms 30 m × 0.32 mm × 0.25 µm (部品番号 123-4732) を使用し、確認分析には Agilent DB-XLB 0.32 mm 内径カラム (部品番号 123-1236) を使用して、3.2 ～ 80 ng/mL の濃度範囲で 6 つのレベルの農薬検量線セットを評価しました。0.5 µL の注入を 2 つのカラムに分流し、微量農薬の検出に合わせてカラムへの導入量を 0.8 pg まで引き下げました。また、分析対象の微量 CLP 農薬各 10 pg をカラムへ導入したデュアルカラム分析のクロマトグラムの一例を図 2 に示します。使用した条件を表 1 にまとめます。

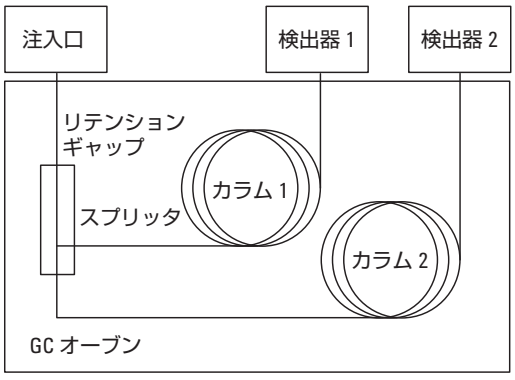
水素キャリアガスと流量プログラミングの使用により、22 種類の分析対象有機塩素系農薬が 8 分未満ですべて分離されました。表 1 のクロマトグラム条件により、シャープで対称的なピークが得られました。それぞれのカラムに分析対象の微量 CLP 農薬各 0.8 pg をカラムへ導入した際のクロマトグラムを図 3 および図 4 に示します。調査した濃度範囲において本分析用カラムによる α-クロルデンとエンドスルファン I との分離度 (R_s) は 1.4 になりました。優れた直線性 (>0.999) が見られ、相対標準偏差は 5% 未満になります。

図 5 は、DB-17ms カラムと DB-XLB カラムにおける各農薬の相関係数を示したものです。測定した濃度範囲において、どちらのキャピラリカラムにおいても、22 種類の全有機塩素系化合物の R^2 値が 0.9993 またはそれ以上の値になるという優れた直線性が見られました。

アジレントのキャピラリ・フロー・テクノロジーはデュアルカラムシステムのメンテナンスを簡略化します。



2 ウェイスプリッタ (メークアップガスなし)



2 ウェイスプリッタ (メークアップガスなし) の配管図

図 1. アジレントの CFT 2 ウェイスプリッタ (メークアップガスなし) (部品番号 G3181B) と、一回のサンプル注入による本分析用カラムと確認分析用カラムでの同時分析を行うための各機器の接続図

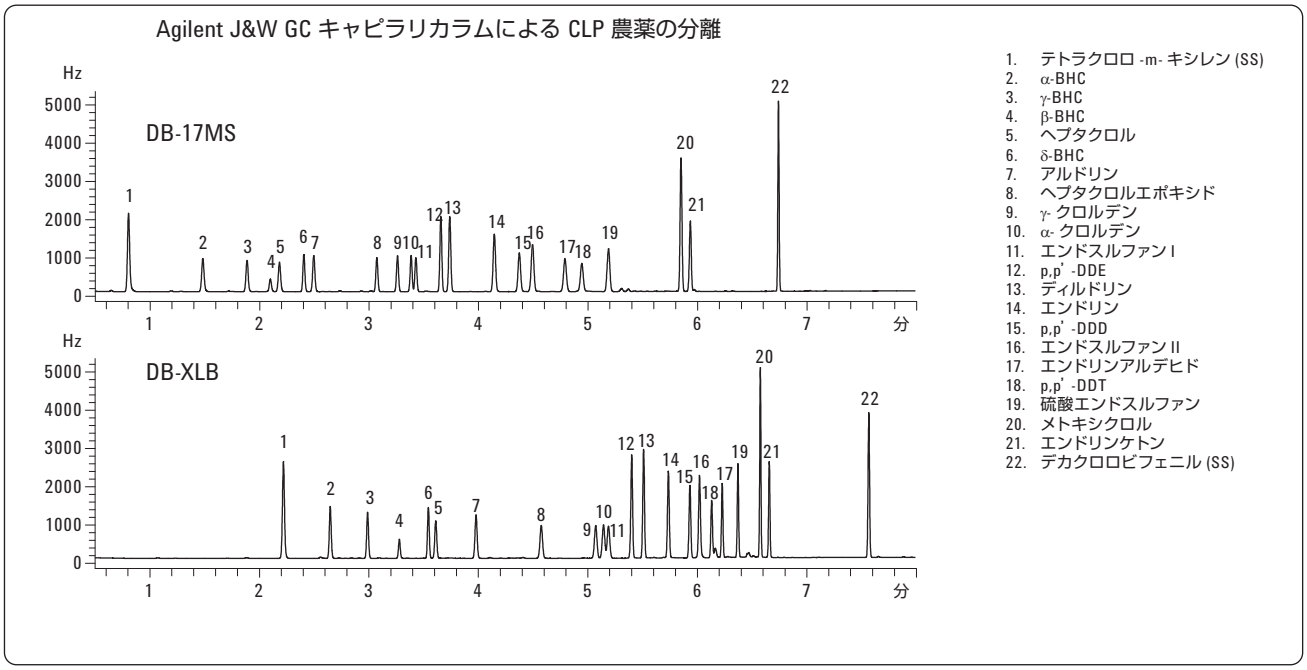


図 2. Agilent J&W DB-17ms と DB-XLB キャピラリ GC カラムを使用したデュアルカラム分析で分析対象の微量 CLP 農薬標準各 10 pg をカラムへ導入した際のクロマトグラム

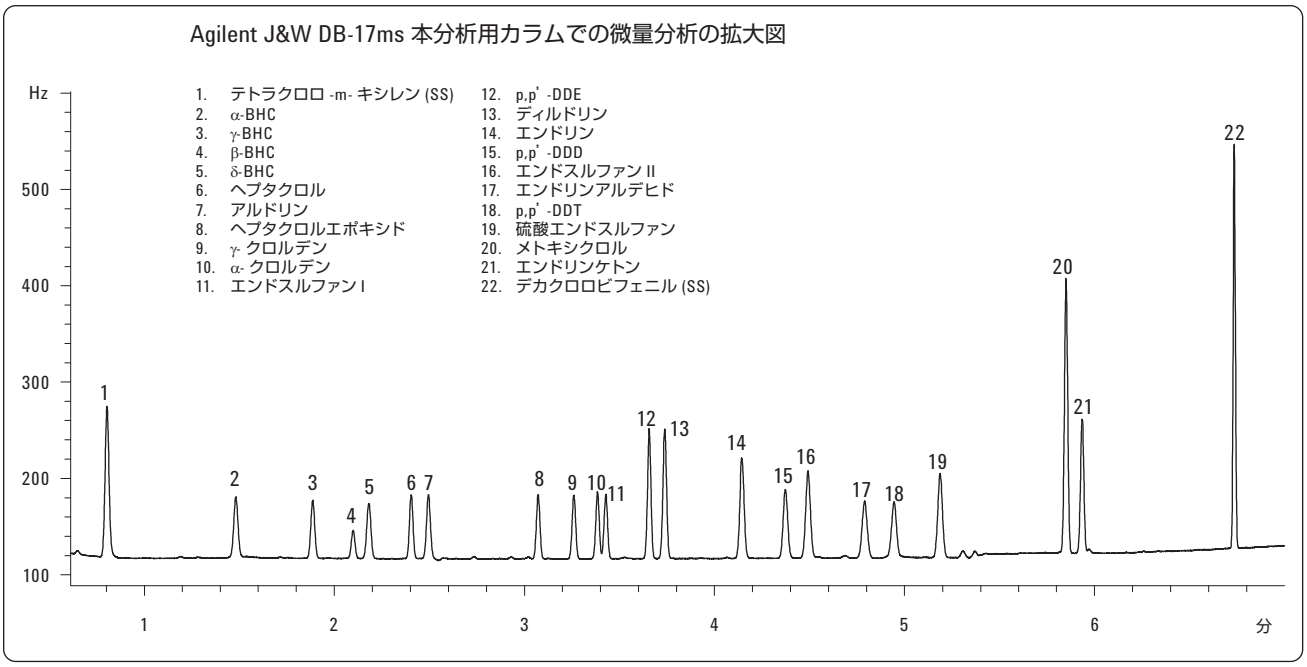


図 3. Agilent J&W DB-17ms 30 m × 0.32 mm × 0.25 µm キャピラリ GC カラム (部品番号 123-4732) に分析対象の微量 CLP 農薬標準各 0.8 pg をカラムへ導入した際のクロマトグラム

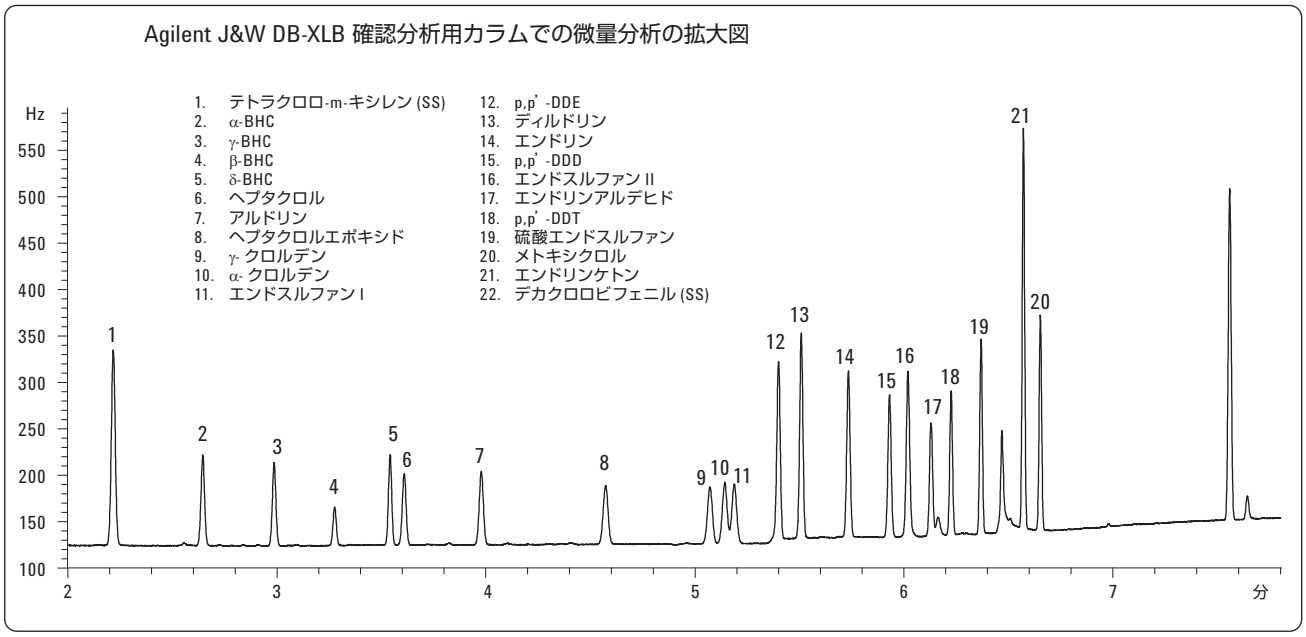


図 4. Agilent J&W DB-XLB 30 m × 0.32 mm × 0.5 µm キャピラリ GC カラム (部品番号 123-1236) に分析対象の微量 CLP 農薬標準各 0.8 pg をカラムへ導入した際のクロマトグラム

Agilent J&W 本分析用カラムと確認分析用カラムでの各 CLP 農薬の直線性

DB-17MS

	R^2
TCMX(テトラクロロ -m- キシレン) (**SS**)	0.9998
α-BHC	0.9996
γ-BHC	0.9996
β-BHC	1.0000
δ-BHC	0.9996
ヘプタクロル	0.9998
アルドリン	0.9995
ヘプタクロルエポキシド	0.9998
γ-クロルデン	0.9996
α-クロルデン	0.9997
エンドスルファン I	0.9998
4,4'-DDE	0.9997
ディルドリン	0.9996
エンドリン	0.9995
4,4'-DDD	0.9998
エンドスルファン II	0.9998
4,4'-DDT	0.9995
エンドリンアルデヒド	0.9996
硫酸エンドスルファン	0.9998
メトキシクロル	0.9998
エンドリンケトン	1.0000
デカクロロビフェニル (**SS**)	1.0000

DB-XLB

	R^2
TCMX(テトラクロロ -m- キシレン) (**SS**)	0.9998
α-BHC	0.9993
γ-BHC	0.9995
β-BHC	0.9998
δ-BHC	0.9995
ヘプタクロル	0.9996
アルドリン	0.9994
ヘプタクロルエポキシド	0.9996
γ-クロルデン	0.9995
α-クロルデン	0.9995
エンドスルファン I	0.9995
4,4'-DDE	0.9995
ディルドリン	0.9996
エンドリン	0.9997
4,4'-DDD	0.9996
エンドスルファン II	0.9996
4,4'-DDT	0.9995
エンドリンアルデヒド	0.9998
硫酸エンドスルファン	0.9998
メトキシクロル	0.9997
エンドリンケトン	0.9998
デカクロロビフェニル (**SS**)	0.9998

図 5. 濃度範囲 3.2 ng/mL ～ 80 ng/mL における CLP 較正用標準溶液中の有機塩素系農薬に関する R^2 値

結論

本考察では、μECD を 2 台装備した Agilent 7890A GC システムを使用しました。Agilent J&W DB-17ms および DB-XLB カラムではシャープで対称的なピーク形状が得られるため、微量検出の信頼性が高まります。どの分析対象微量化合物についても優れた直線性が見られ、本分析用カラムと確認分析用カラムのいずれにおいても、各 CLP 農薬 0.8 pg を下限とした濃度範囲全体にわたって 0.9993 以上の R^2 値が得られました。

このアプリケーションでは、内径 0.32 mm の Agilent J&W DB-17ms および DB-XLB キャピラリカラムを使用した CLP 農薬メソッドの実用性が確認されました。キャリアガスとして水素を使用して流量プログラミングを採用することにより、本分析用カラムと確認分析用カラムの双方における 22 種類の分析対象有機塩素系農薬の分析が、分離/分析性能を維持したまま、8 分未満で完了しました。メンテナンスの容易な再利用可能 CFT スプリッタを使用したメソッドによって分析および確認が 8 分以内に完了するということは、各機器の時間あたりのサンプル処理数が増えるということを意味します。

参考文献

1. Agilent G3181B Two-Way Splitter Kit Without Makeup Gas Installation and Operation Guide: http://www.chem.agilent.com/Library/usermanuals/Public/G3181-90120_045611.pdf
2. アジレントのメソッド変換ソフトウェアは、次のリンク先からダウンロードできます: www.agilent.com/chem/gcmethodtranslation または http://www.chem-agilent.com/contents.php?id=1000080

詳細情報

アジレントの製品およびサービスの詳細は、弊社ウェブサイト www.agilent.com/chem/jp をご覧ください。

www.agilent.com/chem/jp

アジレントは、本文書に誤りが発見された場合、また、本文書の使用により付随的または間接的に生じる損害について一切免責とさせていただきます。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

著作権法で許されている場合を除き、書面による事前の許可なく、本文書を複製、翻案、翻訳することは禁じられています。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc., 2009
Published in Japan
Printed in Japan
May 21, 2009
5990-4069JAJP

Agilent Technologies